

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Josipa Jelić

**Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine galne kiseline,
otopine beta-glukana i modela galne kiseline i beta-glukana**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Fizikalna kemija

Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 24. travnja 2019.

Mentor: dr. sc. *Ivana Tomac*, znan. sur.

Komentor: prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*

Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine galne kiseline, otopine beta-glukana i modela galne kiseline i beta-glukana

Josipa Jelić, 0113136188

Sažetak: Elektrokinetički potencijal još se naziva zeta potencijal. Zeta potencijal se može definirati kao električni potencijal u međupovršini na kliznoj plohi koja razdvaja pokretni dio električnoga međupovršinskog sloja i ostatka makromolekule. Poznavanje zeta-potencijala može omogućiti predviđanje dugoročnog najstabilnijeg ponašanja neke makromolekule. Stabilnost makromolekule ovisi o zeta-potencijalu i naboju na njezinoj površini. Stoga je zadatak ovog diplomskog rada odrediti zeta-potencijal otopine galne kiseline, otopine β -glukana i modela galne kiseline i β -glukana kroz različiti koncentracijski raspon, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela galne kiseline i beta-glukana pri različitim pH vrijednostima.

Ključne riječi: β -glukan, galna kiselina, elektrokinetički potencijal, apsorpcijski spektar

Rad sadrži: 39 stranica
18 slika
4 tablica
43 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|---------------|
| 1. doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i> | Predsjednik |
| 2. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član-komentor |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 27. rujan 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Physical Chemistry

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. 7 held on April 25, 2019.

Mentor: *Ivana Tomac*, PhD

Co-Mentor: *Lidija Jakobek Barron*, PhD, prof.

Determination of the Electrokinetic Potential of the Gallic Acid Solution, Beta-Glucan Solution and the Gallic Acid and Beta-Glucan Model

Josipa Jelić, 0113136188

Summary: The electrokinetic potential is also called the zeta potential. The zeta potential can be defined as the electrical potential in the interfacial surface on the sliding surface that separates the moving part of the electrical interfacial layer and the rest of the macromolecule. Knowledge of the zeta potential can make it possible to predict the long-term stable behaviour of a macromolecule. The stability of a macromolecule depends on the zeta potential and the charge on its surface. Therefore, the aim of this work is to determine the zeta potential of a solution of gallic acid, a β -glucan solution, and a model of gallic acid and β -glucan through different concentration ranges, in order to determine the most stable behaviour of the gallic acid and β -glucan models at different pH values.

Keywords: β -glucan, gallic acid, electrokinetic potential, adsorption spectra

Thesis contains: 39 pages
18 figures
4 tables
43 references

Originalin: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|---------------|
| 1. <i>Valentina Bušić</i> , PhD, assistant prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Tomac</i> , PhD | supervisor |
| 3. <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, prof. | co-supervisor |
| 4. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 27, 2019

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. POLIFENOLI	4
2.1.1. Podjela polifenola	4
2.1.2. Utjecaj polifenola na zdravlje	5
2.1.3. Biodostupnost polifenola	5
2.1.4. Fenolne kiseline	5
2.1.5. Galna kiselina	6
2.2. PREHRAMBENA VLAKNA	8
2.2.1. Podjela prehrambenih vlakana	8
2.2.2. Utjecaj prehrambenih vlakana na zdravlje	8
2.2.3. β -glukan	9
2.3. Elektrokinetički potencijal	12
2.3.2. Elektrokinetički efekti	12
2.3.1. Faktori koji utječu na zeta potencijal	13
2.4. UV-Vis spektroskopija	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. Zadatak rada	16
3.2. Materijali i metode	16
3.2.1. Kemikalije	16
3.2.2. Priprema otopine	16
3.2.3. UV-Vis spektri	17
3.2.4. ζ potencijal	17
4. REZULTATI	18
4.1.5. UV-Vis spektar modela galne kiseline i β -glukana	19
4.1. Elektrokinetički potencijal otopine galne kiseline, otopine β -glukana i modela galne kiseline i β -glukana	21
4.1.1. Elektrokinetički potencijal otopine β -glukana	21
4.1.2. Elektrokinetički potencijal otopine galne kiseline	22
4.1.3. Elektrokinetički potencijal modela galne kiseline i β -glukana	24
4.1.4. Elektrokinetički potencijal modela galne kiseline i β -glukana kroz različiti vremenski period	27
5. RASPRAVA	28
6. ZAKLJUČAK	32
7. LITERATURA	35

Ovaj rada je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2016-06-6777.

1. UVOD

U današnje vrijeme sve veći naglasak se stavlja na mogućnostima iskorištavanja biljnog materijala za potrebe prehrambene, farmaceutske i kozmetičke industrije. Postoji cijeli niz biljnih tvari koje se odlikuju visokom biološkom aktivnošću, a među njima ističu se i polifenoli. Zahvaljujući antioksidativnoj aktivnosti i pozitivnom učinku na zdravlje ljudi, polifenoli su u posljednje vrijeme dobili veliko značenje. Mnoga istraživanja pokazala su antikancerogeno, antihepatotoksično, protuupalno, antivirusno, antibakterijsko i antialergijsko djelovanje određenih polifenolnih spojeva, kao i namirnica koje ih sadrže. Galna kiselina je fenolna kiselina, koja je široko rasprostranjena u različitim biljkama, voću i hrani, gdje je prisutna ili u slobodnoj formi ili kao dio tanina, nazvanih galotanini. Polifenolni spojevi ulaze u interakciju s prehrambenim vlaknima u ljudskom organizmu, pri čemu prehrambena vlakna mogu utjecati na biodostupnost i bioraspoloživost polifenolnih spojeva. Interakcije između polifenolnih spojeva ovise o nekoliko čimbenika, a to su pH, temperatura i ionska jakost okoline.

Prehrambena vlakna su velika skupina ugljikohidratnih polimera, koja se ne probavljaju tj. ne apsorbiraju u tankom crijevu, a mogu biti djelomično ili potpuno fermentirana u debelom crijevu. S obzirom na topljivost, prehrambena vlakna se dijele na topljiva i netopljiva. Jedan od glavnih predstavnika topljivih prehrambenih vlakana je β -glukan. β -glukan je polisaharid, koji čini gradivni materijal stanične stijenke algi, biljaka i gljiva. β -glukani privlače veliku pažnju znanstvenika zbog svojih potencijalnih pozitivnih svojstava. Jedno od najbitnijih svojstava je poticanje aktivnosti imunološkog sustava i smanjenje LDL kolesterola u krvi.

Ultraljubičasta i vidljiva (UV-Vis) spektroskopija temelji se na karakterističnoj osobini molekula da apsorbiraju elektromagnetsko zračenje ultraljubičastog (100-380 nm) i vidljivog (380 do 800 nm) dijela spektra (Penner, 2010).

Elektrokinetički ili zeta potencijal je naboj koji se javlja na granici difuznog sloja čestice koloida i njime se može pratiti stabilnost ili destabilizacija koloida. Stoga je zadatak ovog diplomskog rada odrediti zeta-potencijal otopine galne kiseline, otopine beta-glukana i modela galne kiseline i beta-glukana kroz različiti koncentracijski raspon, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela galne kiseline i β -glukana pri različitim pH vrijednostima.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. POLIFENOLI

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka te u biljnom svijetu čine jednu od najbrojnijih i najrasprostranjenijih skupina spojeva (Gharra, 2009).

Polifenoli su biološki aktivne tvari, vrlo rasprostranjene u prirodi, te imaju izuzetno velik značaj u ljudskoj prehrani. Danas gotovo da ne postoji jelovnik koji ne uključuje barem jednu biljku. Ponajviše od svega tu spadaju voće i povrće, koje pored mnogobrojnih spojeva sadrže i velik dio polifenola. Oni dolaze u različitim koncentracijama i oblicima, ovisno o namirnici, a procjena dnevnog unosa je između 3 i 70 mg (Russo i sur., 2000).

Po strukturi polifenoli su aromatski spojevi sa više hidroksilnih supstituenata. U prirodi se vrlo rijetko nalaze u slobodnom obliku, a uglavnom su u konjugiranom ili esterificiranom obliku (Čović i sur., 2009). Prisutni su u biljnoj hrani kao što je voće, povrće, leguminoze, žitarice, čokolada te u mnogim napicima poput kave, čaja i vina. Ukupnom unosu polifenola pridonosi cjelokupna prehrana. Dnevni unos polifenola je puno veći od unosa brojnih drugih antioksidanasa. Oko 10 puta je veći unos polifenola u odnosu na unos vitamina C te 100 puta veći od unosa karotenoida i vitamina E (Scalbert i sur., 2005).

Preko 8000 polifenolnih spojeva, identificirano je u raznim biljnim vrstama (Pandey i sur., 2009). Polifenoli čine vrlo raznoliku skupinu kemijskih spojeva, koje možemo svrstati u nekoliko definiranih grupa na temelju njihove strukture i sličnih kemijskih svojstava. Svim grupama zajedničko je to što nastaju iz istog intermedijara, a to je fenilalanin, odnosno bliskog prekursora, šikiminske kiseline (Pandey i sur., 2009). Biljkama primarno koriste kao obrambene molekule, za obranu od UV zračenja ili patogena, pigmentaciju, rast i razmnožavanje (Manach i sur., 2004).

2.1.1. Podjela polifenola

Uslijed razlike u strukturi polifenolni spojevi mogu se podijeliti u nekoliko grupa ovisno o podrijetlu, biološkoj funkciji, kemijskoj aktivnosti (Tsao, 2010). Osnovna podjela polifenola je na flavonoide i neflavonoide (Andrés-Lacueva i sur., 2010). Ne-flavonoidni spojevi su jednostavni fenoli, fenolne kiseline, hidrolizirajući tanini, acetofenoni, kumarini, lignani te mnogi drugi. Svaka podskupina ne-flavonoida ima vezanu neku supstitucijsku podskupinu. Tako jednostavni fenoli

imaju supstituiranu alkoholnu skupinu na aromatskom prstenu, dok fenolne kiseline na benzenskom prstenu imaju vezanu karboksilnu skupinu (Tsao i McCallum, 2010).

2.1.2. Utjecaj polifenola na zdravlje

Epidemiološke studije su dokazale da veći unos voća i povrća u prehrani, rezultira smanjenjem rizika od brojnih kroničnih bolesti, zahvaljujući sadržaju polifenola koji se nalazi u voću i povrću. Zahvaljujući jakim antioksidacijskim svojstvima, polifenoli štite stanice od raznih oštećenja uzrokovanih oksidacijskim stresom, čime se smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, osteoporoze, raka i neurodegenerativnih bolesti. Eksperimentalno su dokazana i mnogobrojna biološka djelovanja polifenola, kao što su antioksidativno, antiradikalno, antiupalno, antialergijsko, imunomodulatorno, antimikrobno, antikancerogeno, hipoglikemijsko (Yon i Baek, 2015; Biesalski, 2017).

2.1.3. Biodostupnost polifenola

Zaštitni učinci polifenola najviše ovise o samoj biodostupnosti polifenolnih spojeva u organizmu. Biodostupnost polifenola ovisi o mnogim čimbenicima kao što su struktura polifenola, količini hrane unesene u organizam, topljivosti u vodi, polifenolnoj koncentraciji u unesenoj hrani i dr. (Lewandowska i sur., 2003). Biodostupnost polifenola je relativno niska uslijed slabe apsorpcije u probavnom sustavu i ovisi o kemijskoj strukturi, vrsti spoja i individualnosti crijevne mikroflore (Shivashankara i Acharya, 2010). Većina polifenola se u hrani nalazi u obliku polimera ili glikozida, koji nisu biorazgradivi, te kao takvi se razgrađuju intestinalnim enzimima do molekula koje su biorazgradive (Escarpa i Gonzalez, 2001).

2.1.4. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su sekundarni metaboliti biljaka i stvaraju se kao odgovor na okolišne čimbenike (svjetlo, temperatura). Fenolne kiseline uključuju hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Galna, vanilinska, *p*-hidroksibenzojeva kiselina ubrajaju se u hidroksibenzojeve kiseline. Hidroksibenzojeve kiseline nastaju iz fenilpropana skraćivanjem lanca pomoću procesa β -oksidacije. Postoje dva oblika hidroksibenzojeve kiseline, a to su slobodni i vezani - esterski oblik. U hidroksicimetne kiseline ubrajaju se *p*-kumarinska kiselina, klorogenska, ferulična, kafeinska kiselina, koje se u biljkama pojavljuju u obliku estera (Shahidi i Yeo, 2016).

Razina hidroksibenzojeve kiseline je relativno niska u jestivim biljkama (osim kod određenog crvenog voća, crne rotkvice i luka, koji mogu imati koncentracije i do nekoliko desetina miligrama po kilogramu svježe mase) (Pandey i sur., 2009; Manach i sur., 2004). Hidroksicimetne kiseline se rijetko nalaze u slobodnom obliku (osim u procesiranoj hrani), a u vezanom su obliku glikozilirani oblici ili esteri šikiminske, vinske i kafeinske kiseline. Najviše ih sadrže kivi, šljive, borovnice, višnje i jabuke (Manach i sur., 2004).

2.1.5. Galna kiselina

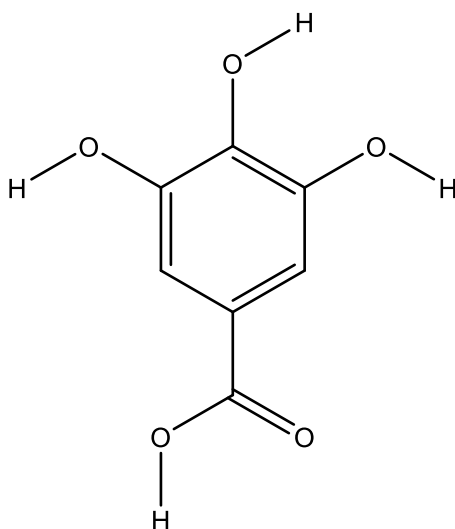
Galna kiselina (3, 4, 5- trihidroksibenzojeva kiselina) je jedna od najpoznatijih predstavnica fenolnih spojeva koja se uobičajeno koristi za izražavanje masenog udjela ukupnih fenola ili fenolnih podgrupa u biljnim ekstraktima. Najveći izvori galne kiseline su jabuke, maslinovo ulje, orasi, čaj, citrusni plodovi.

Galna kiselina je planarna molekula koja se sastoji od aromatkog prstena na kojeg su vezane tri fenolne hidroksilne skupine i karboksilna skupina, **Slika 1**. Hidroksilne skupine su na aromatski prsten vezane u *ortho* položaju u odnosu jedna prema drugoj. Postoje četiri izomera galne kiseline koji se međusobno razlikuju po položaju hidroksilnih skupina. Na antioksidacijsku i antiradikalnu aktivnost utječe broj i položaj hidroksilnih skupina te prisutnost drugih funkcionalnih skupina i njihov položaj u odnosu na hidroksilne skupine. Antioksidacijsko djelovanje neke molekule povećava se sa povećanjem broja hidroksilnih skupina vezanih na aromatski prsten, stoga su mnoga istraživanja dokazala da galna kiselina pokazuje najveći antiradikalni učinak među mnogobrojnim polifenolima (Badhani i sur., 2015).

Nadalje, galna kiselina ima utjecaj na bioraspoloživost određenih ključnih minerala, poput željeza, cinka, kalcija, stvarajući sa njima netopljive komplekse (Badhani i sur., 2015). Među raznim metalnim ionima u ljudskom tijelu, željezo je jedan od najzastupljenijih prijelaznih metala, uslijed čijeg vezanja s polifenolima (galnom kiselinom), dolazi do smanjene apsorpcije željeza, što može dovesti do deficita ovog minerala (Badhani, 2015).

Galna kiselina široko je rasprostranjena u različitim biljkama, voću i hrani, kao polihidroksifenolna sastavnica, prisutna je ili u slobodnom obliku ili kao sastavni dio tanina, nazvanih galotanini. Ima različita biološka djelovanja: antibakterijsko, antiviralno, antiupalno djelovanje. Veliko zanimanje

za galnu kiselinu pokazuju mnogi znanstvenici, upravo zbog njenog antitumorskog djelovanja (Yuo i sur., 2010). Esterifikacijom hidroksilnih skupina galne kiseline moguće je dobiti estere s brojnim analogima i izuzetno značajnim farmakološkim prednostima (Locatelli i sur., 2013). Čista galna kiselina je bezbojni kristalni prah, a soli i esteri galne kiseline nazivaju se galati. Esteri galne kiseline najčešće se upotrebljavaju za stabilizaciju biljnih i životinjskih masti jer sprječavaju njihovu oksidaciju. Dokazano je da su galati mogući uzročnici alergija, posebno za ljude koji su osjetljivi na acetilsalicilnu kiselinu, te astmatičare. Veće količine mogu uzrokovati iritaciju kože i želuca. Pri prženju namirnica na temperaturama iznad 190 °C galati vežu ione željeza. Zbog mogućnosti vezanja željeza, kod djece mogu uzrokovati cijanozu, plavkasto obojenje kože zbog snižene koncentracije kisika u krvi. Zbog toga se ne smiju dodavati u hranu za djecu i dojenčad (web 5).



Slika 1 Kemijska struktura galne kiseline (WEB 1)

2.2. PREHRAMBENA VLAKNA

Američko udruženje kemičara (*American Association of Cereal Chemists*) donijelo je jednoglasnu definiciju prehrambenih vlakana, koja glasi: „Prehrambena vlakna su jestivi dijelovi biljaka i analognih ugljikohidrata koji su otporni na probavu i apsorpciju u tankom crijevu čovjeka, s potpunom ili djelomičnom fermentacijom u debelom crijevu. Prehrambena vlakna uključuju polisaharide, oligosaharide, lignin kao i s njim povezane biljne tvari. Potiču korisne fiziološke učinke, uključujući laksaciju, i/ili smanjivanje krvnog kolesterola i/ili smanjivanje glukoze u krvi ” (Mandić i Nosić, 2009). Prehrambena vlakna lako su dostupna jer se nalaze u namirnicama koje se svakodnevno konzumiraju. Isključivo se nalaze u žitaricama, voću, povrću, mahunarkama i sjemenkama (Vranešić- Bender, 2016).

2.2.1. Podjela prehrambenih vlakana

Prehrambena vlakna se mogu podijeliti na temelju njihove topljivosti na topljiva i netopljiva prehrambena vlakna. U netopljiva prehrambena vlakna ubrajaju se celuloza, hemiceluloza, lignin i neprobavljivi škrob, dok se u topljiva prehrambena vlakna ubrajaju β -glukani, pektini, gume i dr. (Quiros-Sauceda i sur., 2014).

Topljiva prehrambena vlakna tijekom probave se otapaju te pri tome stvaraju viskoznu masu koja nalikuje gelu, podliježu fermentaciji u debelom crijevu pri čemu nastaju kratkolančane masne kiseline koje posjeduju energetske funkcije i organizam ih koristi u tu svrhu. Imaju blagotvoran učinak na ljudsko zdravlje, djelotvorno brane organizam od kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa. Izvori topljivih prehrambenih vlakana su voće, povrće, zob, riža.

2.2.2. Utjecaj prehrambenih vlakana na zdravlje

Prehrana bogata prehrambenim vlaknima i složenim ugljikohidratima često se povezuje sa smanjenom pojavom pretilosti. Prehrambena vlakna djeluju kao fiziološka prepreka unosu energije tako što zamjenjuju dostupnu energiju i hranjive tvari iz prehrane i smanjuju apsorpciju u tankom crijevu (Heaton, 1973). U većini istraživanja s kontroliranim unosom energije i povećanjem prehrambenih vlakana došlo je do povećanja sitosti nakon obroka i smanjenja

naknadne gladi. Pozitivne učinke su pokazale i neke vrste vlakana pri snižavanju LDL-kolesterola, zaštiti od karcinoma debelog crijeva i koronarne bolesti srca. Dodatno, prehrambena vlakna dokazala su se korisnima i pri tretiranju nepodnošenja glukoze, te poboljšanju gastrointestinalnog sustava (Vranešić-Bender i Krstev, 2008).

Od svih vrsta prehrambenih namirnica, najčešće se prehrambenim vlaknima obogaćuju pekarski proizvodi jer su u suvremenoj prehranbenoj piramidi najzastupljenije namirnice na bazi žitarica (Filipović i sur., 2003).

2.2.3. β -glukan

β -glukan (**Slika 2**) je dugolančani polisaharid, sastavljen od više molekula glukoze, koji se prirodno nalazi u staničnim stijenkama kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*), mnogim jestivim gljivama te žitaricama (ječam i zob). β -glukani sastoje se od linearnih lanaca glukopiranoznih jedinica koje su povezane β -(1,3) i β -(1,4) vezama. Zbog neravnomjerno raspoređenih veza u molekuli pri određenim uvjetima nastaju duži lanci sa β -(1,4) vezama ili po nekoliko β -(1,3) veza jedna iza druge.

Potvrđene su neke fiziološke funkcije β -glukana, uslijed čega je došlo do razvoja i sve veće upotrebe β -glukana u biomedicinskoj, farmaceutskoj, prehranbenoj i kozmetičkoj industriji. Hrana i dodaci prehrani koji sadrže β -glukane postaju sve popularniji. Djelotvornost i aktivnost β -glukana ovisi o njegovom izvoru.

Hrana koja u svom sastavu sadrži β -glukan spada u skupinu funkcionalne hrane jer njezin sastav i namjena imaju pozitivne učinke na ljudsko zdravlje i smanjuju rizik od raznih bolesti. Najvažnija svrha hrane sa komponentom β -glukanom je da ljudskom organizmu osigura hranjive tvari te da ujedno sprječava bolesti i ima blagotvorno fiziološko i psihološko djelovanje na ljudski organizam, što je osnovna uloga funkcionalne hrane (WEB 6).

Brojna istraživanja pokazala su da β -glukan pozitivno djeluje u kombinaciji s drugim komponentama hrane. Posebno se ističe sinergijsko djelovanje β -glukana s vitaminom C za kojeg se ustanovilo da stimulira iste imunosne odgovore kao i β -glukan (Vetvicka, 2011).

Interakcije između prehrambenih vlakana i polifenola mogu se pratiti preko procesa adsorpcije u kojima je polifenol adsorbat, a β -glukan adsorbens. Tijekom procesa adsorpcije, molekule iz otopine adsorbiraju se na površinu adsorbensa (Soto i sur., 2011). Pokazalo se da prehrambena vlakna mogu ulaziti u interakcije s polifenolima, a njihovim interakcijama može se utjecati na bioaktivnost polifenola, funkcionalnu i senzorsku kvalitetu hrane pa se provode istraživanja ovih interakcija (Gao i sur., 2012; Wu i sur., 2011).

Veze između prehrambenih vlakana i polifenola mogu biti kovalentne i nekovalentne. Nekovalentne veze su vodikove veze između OH skupine polifenola i kisikovog atoma vlakana, dok su kovalentne veze između fenolnih kiselina i vlakana (Bordenave i sur., 2014; Quiros Saucedo i sur., 2014).

β -GLUKAN U ŽITARICAMA:

Najveća koncentracija β -glukana je u vanjskom omotaču zrna žitarice i to u njegovom aleuronskom i subaleuronskom sloju koji obavija endosperm. Sadržaj β -glukana je promjenjiv s obzirom na vanjske (okolišne) uvjete tijekom razvoja endosperma. Proces razvoja endosperma regulira enzim (1,3; 1,4)- β -glukan endohidrolaza, poznat pod nazivom i kao 1,3- 1,4- β glukanaza, koji omogućava degradaciju stanične stijenke endosperma za vrijeme klijanja.

Među žitaricama, ječam sadrži najveću količinu β -glukana (2-20 g) od toga frakcija topljiva u vodi čini 65%, te zob (3-8 g) od toga 82% čini frakcija topljiva u vodi (Mateljan, 2008).

β -GLUKAN U KVASCIMA:

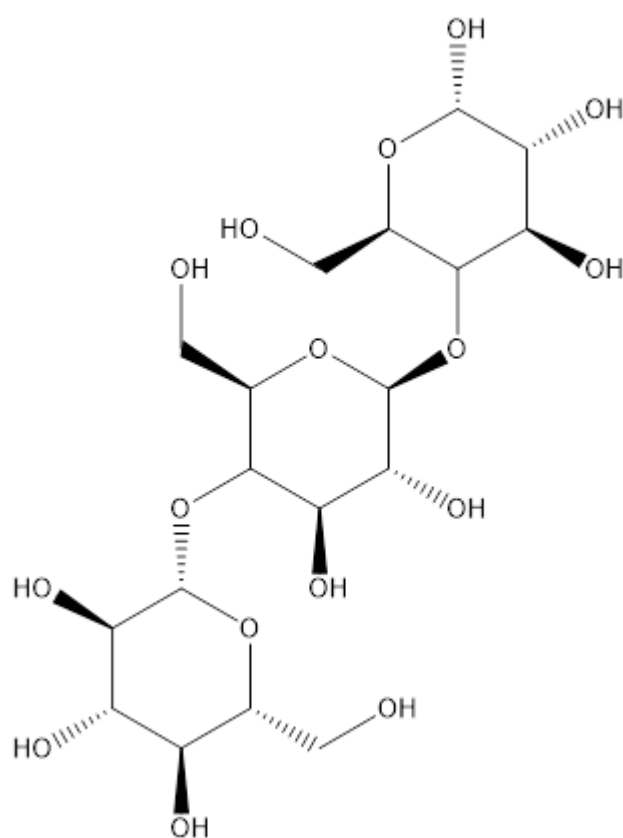
β -glukan se prirodno nalazi u staničnim stijenkama pekarskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Izolirani β - 1,3 i 1,6 glukani, imaju najveći pozitivni učinak na rad imunološkog sustava. Prvenstveno, uzrokuju čitavu kaskadu procesa koji stimuliraju, moduliraju i aktiviraju imunološki sustav.

β -GLUKAN U GLJIVAMA:

β -glukan je prirodni sastojak mnogih jestivih gljiva, poput Šiitake gljiva, Reiši gljiva, Maitake gljiva, Antroida gljiva te se izolira iz njih.

Šiitake gljive sadrže β - 1,3 glukana koji se u Japanu koristi kao lijek u terapiji protiv karcinoma, Studije su dokazale da sprječava razvoj tumora i da ima pozitivan utjecaj na smanjenje kolesterola u krvi.

Reiši gljive koriste se u kineskoj medicini u liječenju oboljenja jetre, artritisa i povišenog krvnog tlaka. Reiši gljive iznimno su poznate po svojim imunostimulativnim svojstvima te imaju protuupalno, antibakterijsko i antioksidativno djelovanje. Aktivne komponente uključuju glikoproteine, enzime i polisaharide (Mateljan, 2008).



Slika 2 Kemijska struktura β -glukana

2.3. Elektrokinetički potencijal

2.3.2. Elektrokinetički efekti

Postoje četiri elektrokinetička efekta:

- Potencijal strujanja: strujanjem neke tekućine kroz usku cijev ili kroz porozan čep (svežanj uskih paralelnih cijevi), pod utjecajem hidrostatskog tlaka uspostavlja se potencijalna razlika između krajeva cijevi,
- Elektroosmoza: je obrat potencijala strujanja. Ako se namjerno prisili utvrđena potencijalna razlika po dužini osi uske cijevi ili nekog poroznog čepa, tekućina u cijevi ili čepu teći će sve do uspostave hidrostatskog tlaka, tzv. elektroosmotskog tlaka dovoljnog da sprijeti kontinuirani tok,
- Elektroforeza: efekt suprotan elektroosmozi, jedna od najpoznatijih elektrokinetičkih pojava, javlja se kod putovanja sićušnih čvrstih čestica suspendiranih u tekućini pod utjecajem elektromagnetskog polja i
- Dornov efekt: je obrat elektroforeze, očituje se kao potencijalna razlika kada se suspendirane čestice u tekućini gibaju pod utjecajem mehaničke sile, gravitacije (Potter, 1968).

Smatra se da su sva četiri glavna elektrokinetička efekta popraćena smicanjem difuznog sloja kada dođe do relativnog gibanja faza koje su u kontaktu (Potter, 1968).

Elektrokinetički potencijal molekula ili čestica u određenom mediju naziva se zeta potencijal te on proizlazi iz površinskog naboja, vrste iona u otopini i koncentracije. Stabilnost uzorka koja se očituje većom otpornošću na agregaciju i flokulaciju čestica bit će veća što je na površini čestica veći naboj (Web 1).

Glavno svojstvo koloidnih sustava je zeta elektrokinetički potencijal, to je zapravo naboj koji se javlja na čestici koloida. Može se protumačiti kao razlika potencijala koja se javlja usljed relativnog gibanja jednog koloidnog sloja prema drugom. Zeta potencijal se može mjeriti eksperimentalno, te se mijenja s obzirom na promjene u otopini (Salopek i sur., 1992).

Stabilnost koloidnog sustava može se ocijeniti mjerenjem zeta potencijala, stoga je vrlo bitan pokazatelj interakcija među koloidnim česticama.

Opća granica između stabilnog i nestabilnog sustava se uzima ili +30 ili -30 mV. Čestice sa zeta potencijalom višim od +30 mV ili nižim od -30 mV, smatraju se stabilnima. Međutim, ukoliko je vrijednost zeta potencijala od 0 do +5 mV, čestica neke makromolekule je sve bliže neutralnom stanju, ili je neutralna i podložna destabilizaciji (Hunter, 1981).

2.3.1. Faktori koji utječu na zeta potencijal

pH VRIJEDNOST MEDIJA

U vodenom mediju, pH uzorka je jedan od najvažnijih faktora koji utječe na zeta potencijal. U koliko se na molekulu koja ima negativan zeta potencijal dodaje lužina, molekula će nastojati postići negativniji naboj i bit će negativna vrijednost zeta potencijala. Međutim, ako se dodaje kiselina u otopinu, doći će do neutralizacije naboja molekule. Daljnjim dodavanjem kiseline povećat će se pozitivni naboj molekule i porast će vrijednost zeta potencijala. Točka u kojoj je zeta potencijal jednak nuli, naziva se izoelektrična točka i smatra se da je tada sustav najnestabilniji jer ima naboj nula (neutralan), odnosno molekula se može taložiti (Web 1).

PROVODNOST

Debljina dvosloja makromolekule ovisi o koncentraciji iona u otopini i može se izračunati pomoću ionizacijske snage medija (Hunter, 1981).

KONCENTRACIJA

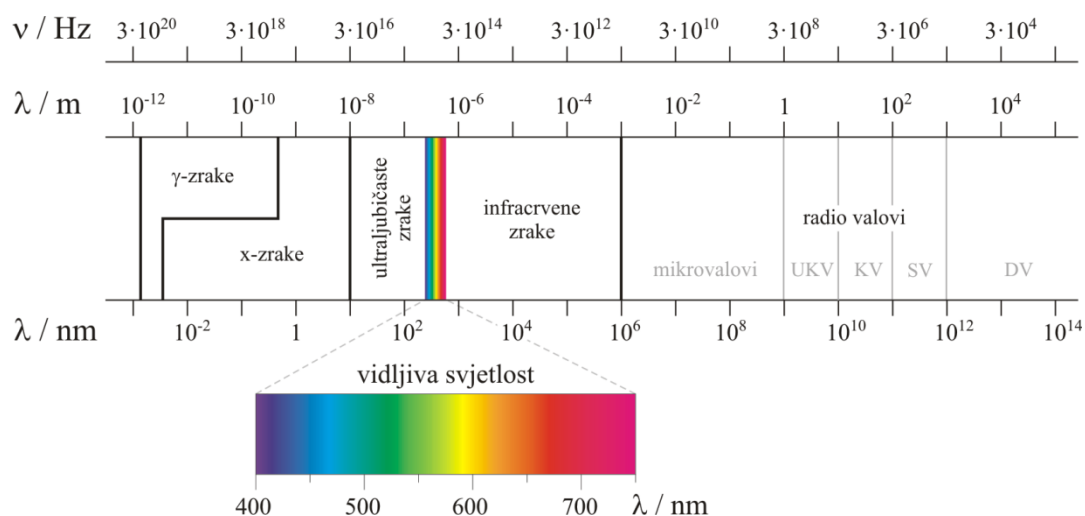
Koncentracija utječe na zeta potencijal jer daje informaciju kako proizvesti model maksimalne stabilnosti (Hunter, 1981).

2.4. UV-Vis spektroskopija

Ultraljubičasta i vidljiva apsorpcijska spektroskopija primjenjuje se u kvantitativnoj i kvalitativnoj analizi. Jedna je od najčešće primjenjivanih metoda u kemijskim i kliničkim laboratorijima svijeta. Temelji se na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava tvari. Za određivanje u UV, Vis i IR dijelu spektra koriste se spektrofotometri. Uređaji koji električnim putem mjere apsorbanciju zovu se apsorpcijski spektrometri.

Spektrofotometar mjeri intenzitet svjetla koji je prošao kroz analizirani uzorak (I) te ga uspoređuje sa intenzitetom upadnog svjetla (I_0). Osnovni djelovi spektrofotometra su: izvor svjetlosti, držač uzorka, monokromator i detektor. Ovi uređaji mogu imati jedan ili dva snopa svjetlosti. Kod instrumenata s jednim snopom (I_0) se mjeri nakon što se uzorak izvadi iz držača. Kod instrumenata s dva snopa svjetlosti upadni snop se dijeli na dva prije prolaska kroz uzorak. Jedan služi kao referentni snop (I_0), a drugi prolazi kroz uzorak (I).

Najčešće se primjenjuje kod mjerenja tekućih uzoraka. Uzorak je smješten u prozirnoj kiveti koja je najčešće širine 1cm i načinjena je od kvarca. Za vidljivi dio spektra kivete su staklene, a za UV dio spektra su kvarcne. Ultraljubičasto (UV) i vidljivo (Vis) zračenje pokriva u elektromagnetskom dijelu spektra područje valne duljine od približno 10 do 750 nm. Područje mjerenja za Vis zračenje je od 400 do 700 nm, a za UV od 200 do 400 nm, spektar elektromagnetskog zračenja prikazan je na **Slici 3**. Međudjelovanje UV-Vis elektromagnetskog zračenja s atomima i molekulama analiziranog uzorka ima za posljedicu prijelaz elektrona iz orbitala niže energije u orbitale višeg energetskog stanja. Prijelaz elektrona između dviju orbitala naziva se elektronskim prijelazom, a odgovarajući apsorpcijski proces elektronska apsorpcija (WEB 2).



Slika 3 Spektar elektromagnetskog zračenja (Web 4)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak rada

- odrediti zeta-potencijal: a) otopine galne kiseline,

b) otopine β -glukana,

c) modela galne kiseline i β -glukana

kroz različiti koncentracijski raspon i

- odrediti najstabilnije ponašanje modela galne kiseline i β -glukana pri različitim pH vrijednostima.

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Kemikalije

Kemikalije korištene tijekom ovog diplomskom radu su:

- galna kiselina,
- β -glukan,
- 0,1 mol L⁻¹ klorovodični pufer i pufer kalijeva klorida za pH 1,8
- 0,1 mol L⁻¹ fosfatni pufer za pH 5,5 i 7,5,
- 0,1 mol L⁻¹ karbonatni pufer za pH 10
- destilirana voda.

3.2.2. Priprema otopine

Otopina β -glukana (190 mg L⁻¹) pripremljena je u ultračistoj vodi.

Otopina galne kiseline pripremljena je u metanolu, HPLC čistoće te je razrjeđivana na radne koncentracije (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) u pufer otopinama pH vrijednosti 1,8; 5,5; 7,5 i 10.

3.2.3. UV-Vis spektri

Za snimanje apsorpcijskih spektara koristio se UV/Vis spektrofotometar tvrtke Shimadzu koji je dvozračni spektrofotometar s mogućnošću mjerenja apsorbanije u ultraljubičastom i vidljivom području odnosno u području valnih duljina od 190 do 1100 nm. Brzina skeniranja je varijabilna između 10 i 3000 nm/min. Izvor svjetlosti je halogena lampica za vidljivo područje i deuterijska lampica za ultraljubičasto područje, a detektor zračenja je silikonska fotodioda. Uređaj je opremljen s mjestima za uzorak i za slijepu probu. Mjerenje se provodi u kvarcnim kivetama s duljinom puta od 1 cm. Primjenjuje se za kvantitativna analizu tekućih uzoraka (Web 3).

Snimanje UV-Vis spektra provedeno je na modelu galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) pri valnoj duljini (λ) od 200 do 700 nm u pH vrijednostima 1,8; 5,5; 7,5 i 10 kroz vremenski period od 1, 2, 5 i 16 sati.

3.2.4. ζ potencijal

Mjerenje vrijednosti zeta potencijala je provedeno na uređaju Zetasizer 2000 (Malvern). Zetasizer 2000 je kompjutorski kontrolirani automatski laboratorijski uređaj za određivanje zeta potencijala u različitim uzorcima. Sastoji se od sustava za mjerenje zeta potencijala, sa standardnom kapilarnom ćelijom te kompjutorskim sustavom IBM PC-AT Compatible (Web 3). Vrijednosti zeta potencijala dobivene su pomoću Helmholtz-Smoluchowski relacije prikazane **Jednadžbom 1**:

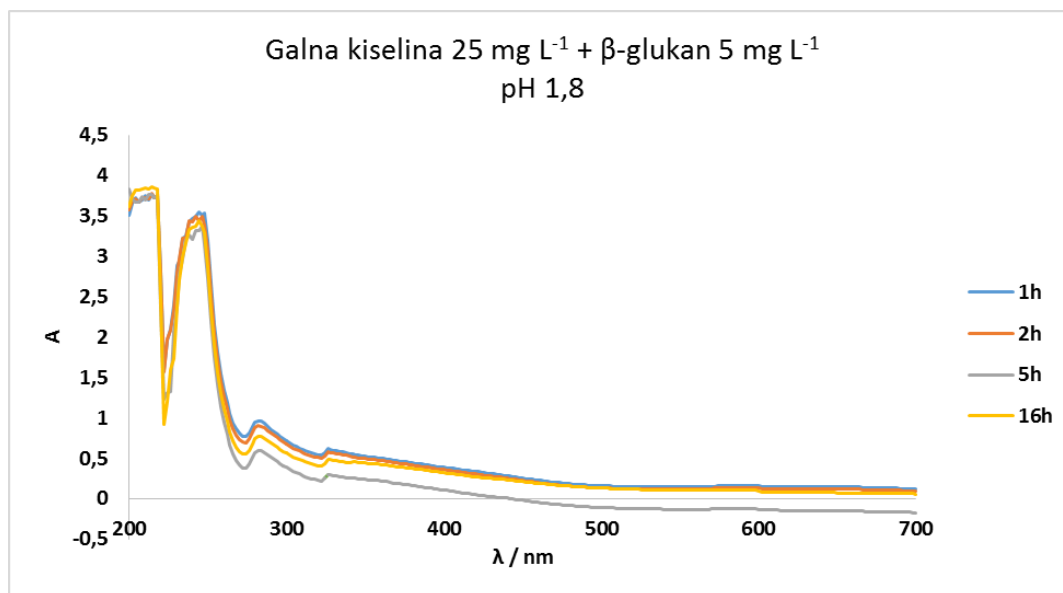
$$\zeta = \frac{\kappa \eta \Delta E}{\varepsilon_0 \varepsilon \Delta P} \quad (1)$$

gdje su ΔE potencijal strujanja; ΔP razlika u hidrodinamičkom tlaku; η viskoznost otopine; $\varepsilon, \varepsilon_0, \kappa$ dielektrična konstanta otopine, propusnost vakuuma i vodljivost otopine (Susanto i sur., 2009).

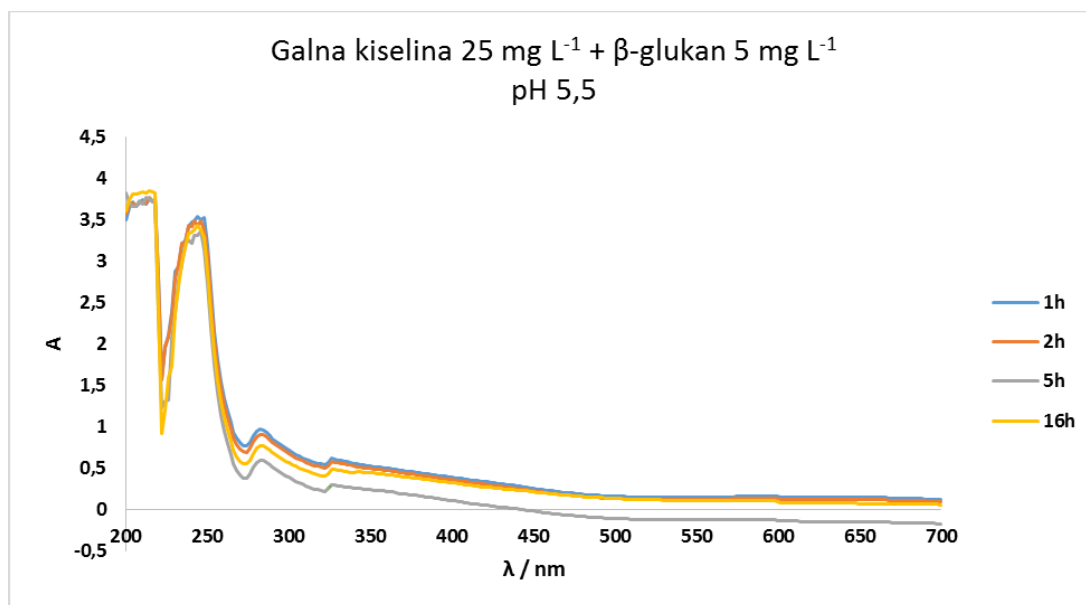
Mjerenja su provedena na sobnoj temperaturi pri 25°C .

4. REZULTATI

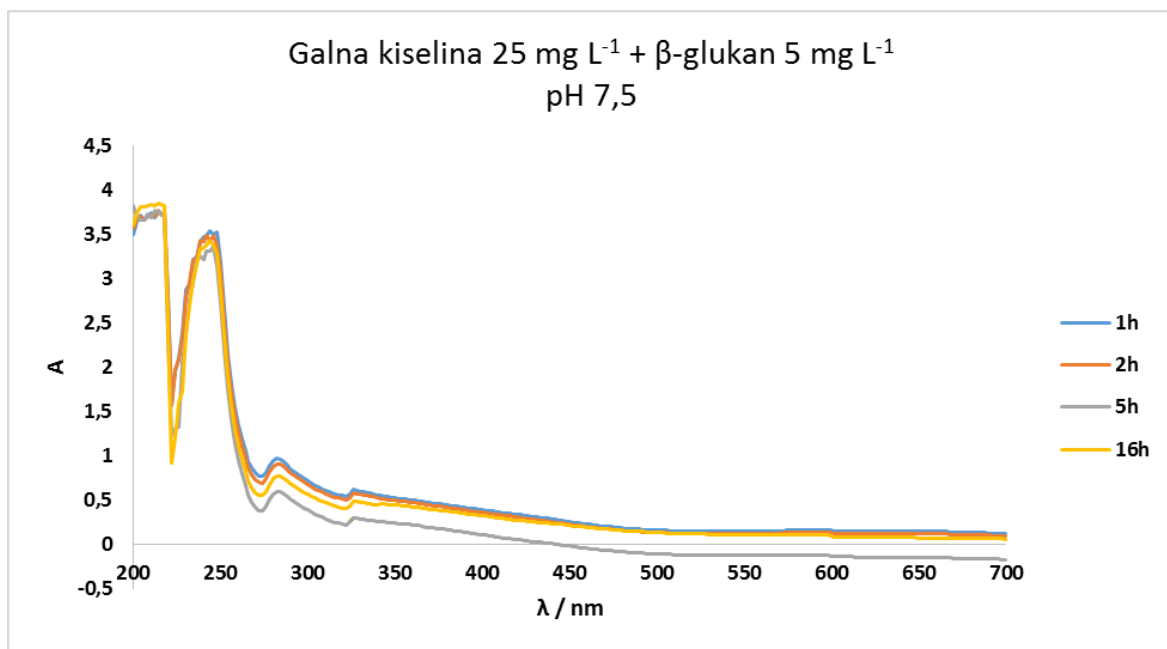
4.1.5. UV-Vis spektar modela galne kiseline i β -glukana



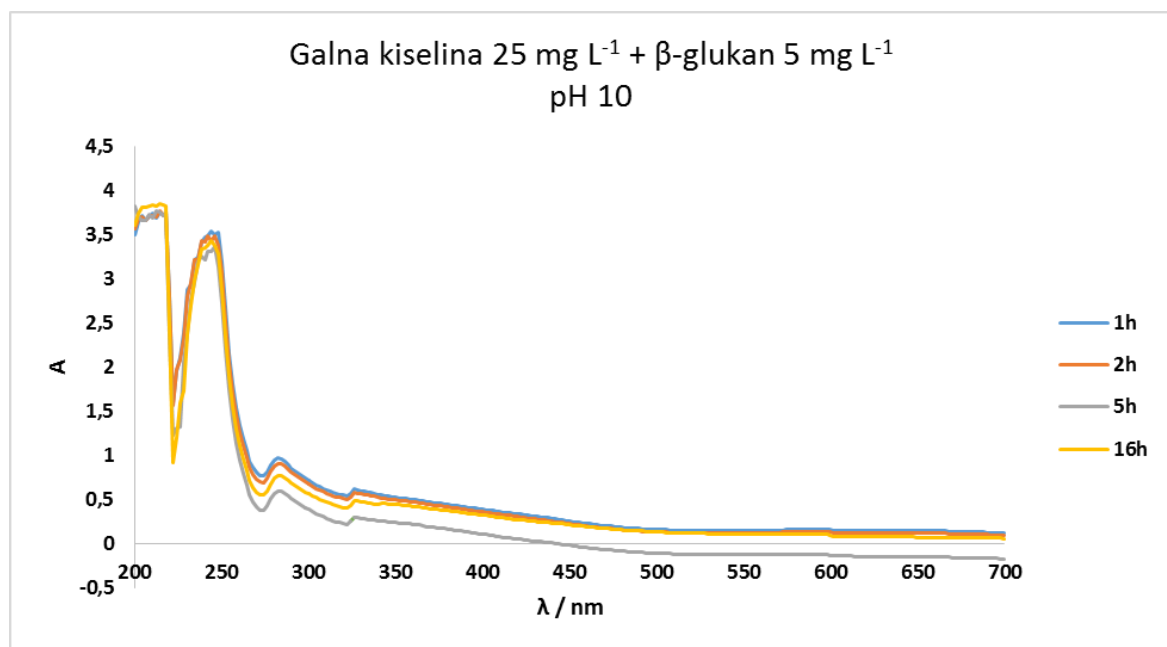
Slika 4 Apsorpcijski spektar modela galne kiseline (25 mg L⁻¹) i β -glukana (5 mg L⁻¹) pri pH 1,8 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h



Slika 5 Apsorpcijski spektar modela galne kiseline (25 mg L⁻¹) i β -glukana (5 mg L⁻¹) pri pH 5,5 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h



Slika 6 ApSORPCIJSKI spektar modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) pri pH 7,5 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h



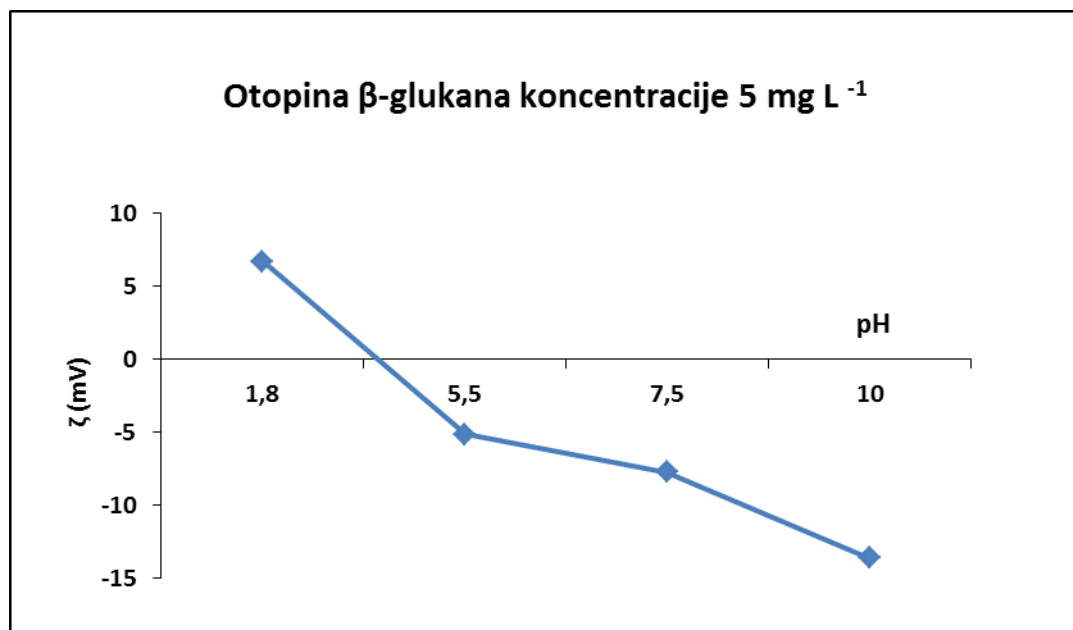
Slika 7 ApSORPCIJSKI spektar modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) pri pH 10 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h

4.1. Elektrokinetički potencijal otopine galne kiseline, otopine β -glukana i modela galne kiseline i β -glukana

4.1.1. Elektrokinetički potencijal otopine β -glukana

Tablica 1 Vrijednosti zeta potencijala otopine β -glukana (5 mg L^{-1}) u ovisnosti o pH 1,8; 5,5; 7,5; 10

pH	ζ (mV)
1,8	6,7
5,5	-5,1
7,5	-7,7
10	-13,6

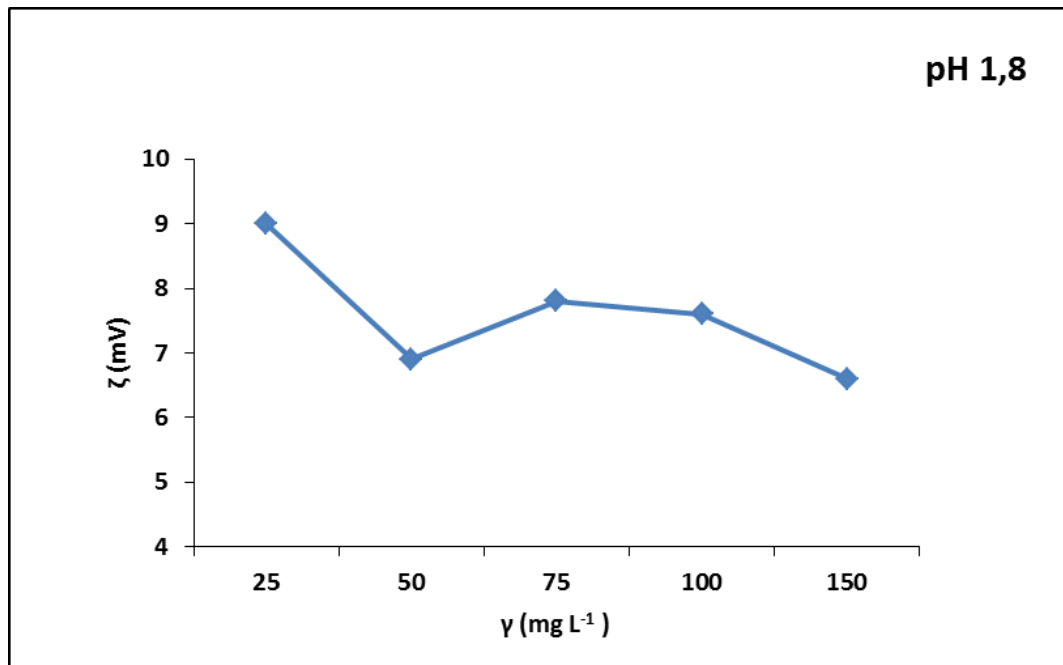


Slika 8 Vrijednost zeta potencijala otopine β -glukana (5 mg L^{-1}) pri pH 1,8; 5,5; 7,5; 10

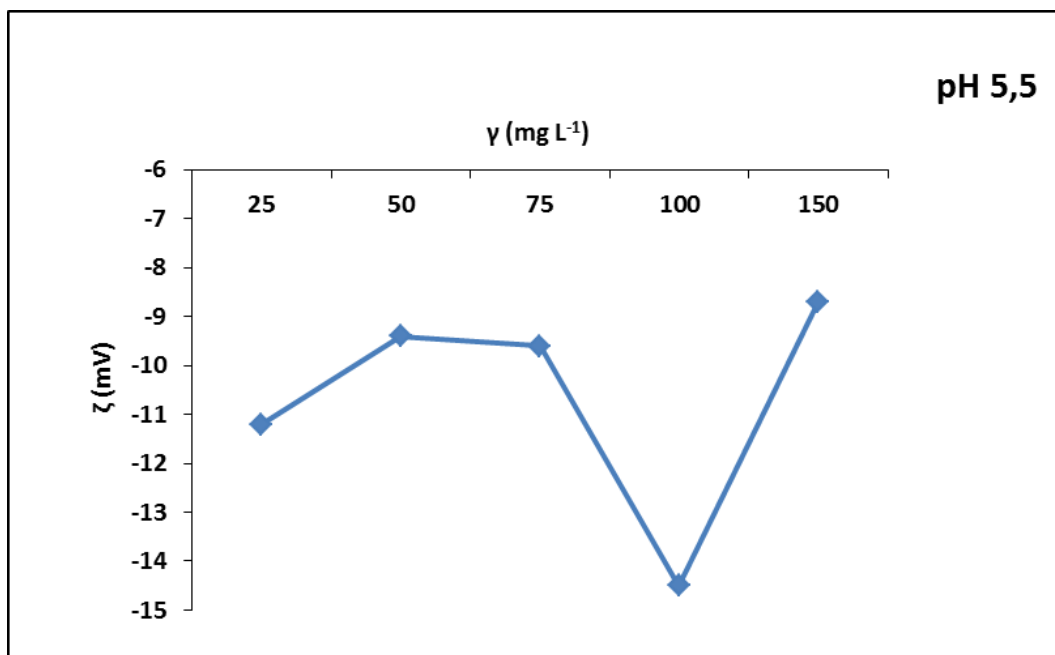
4.1.2 Elektrokinetički potencijal otopine galne kiseline

Tablica 2 Vrijednosti zeta potencijala otopine galne kiseline (25, 50, 75, 100, 150 mg L⁻¹) u ovisnosti o pH vrijednostima 1,8; 5,5; 7,5; 10

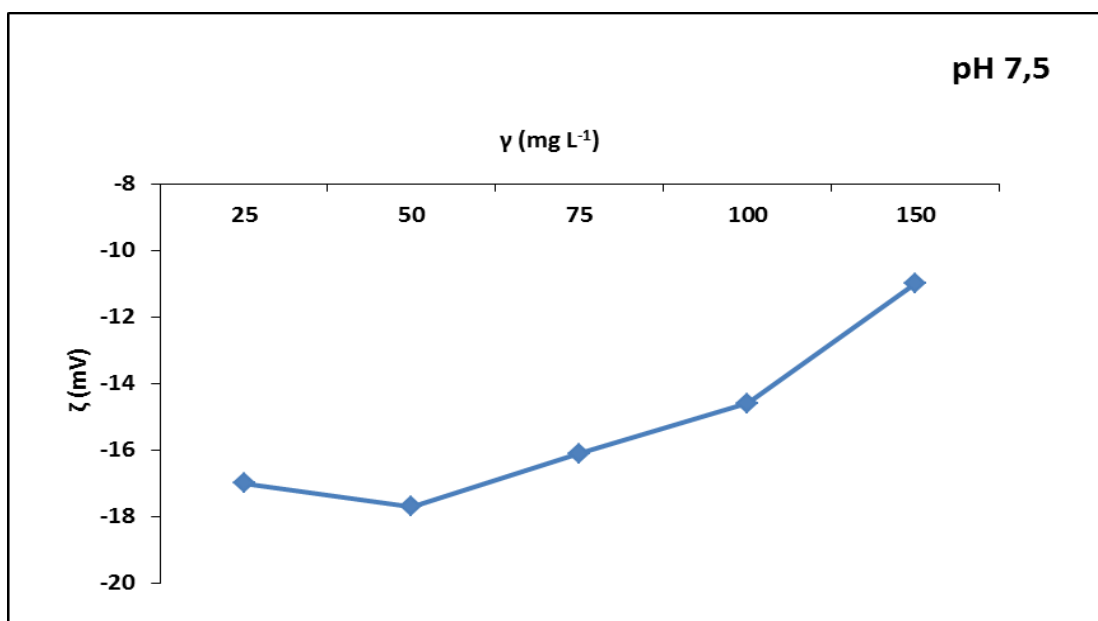
	pH 1,8	pH 5,5	pH 7,5	pH 10
γ (mg L ⁻¹)	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)
25	9	-11,2	-17	-24,5
50	6,9	-9,4	-17,7	-26
75	7,8	-9,6	-16,1	-29,5
100	7,6	-14,5	-14,6	-30
150	6,6	-8,7	-11	-27,8



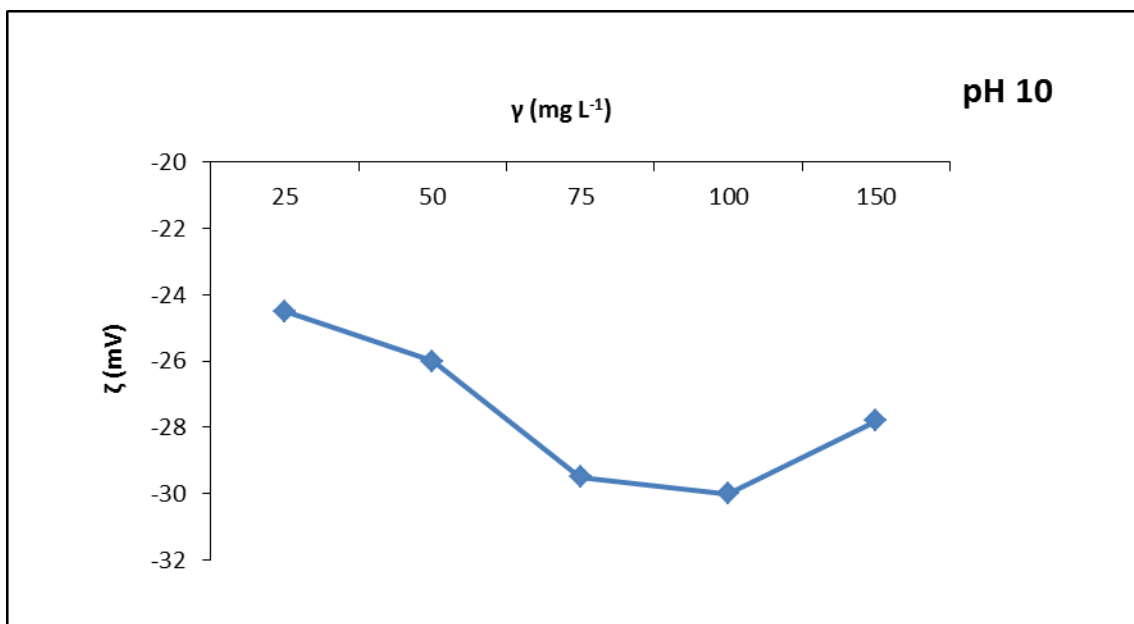
Slika 9 Vrijednost zeta potencijala otopine galne kiseline pri pH 1,8



Slika 10 Vrijednost zeta potencijala otopine galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L^{-1}) pri pH 5,5



Slika 11 Vrijednost zeta potencijala otopine galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L^{-1}) pri pH 7,5

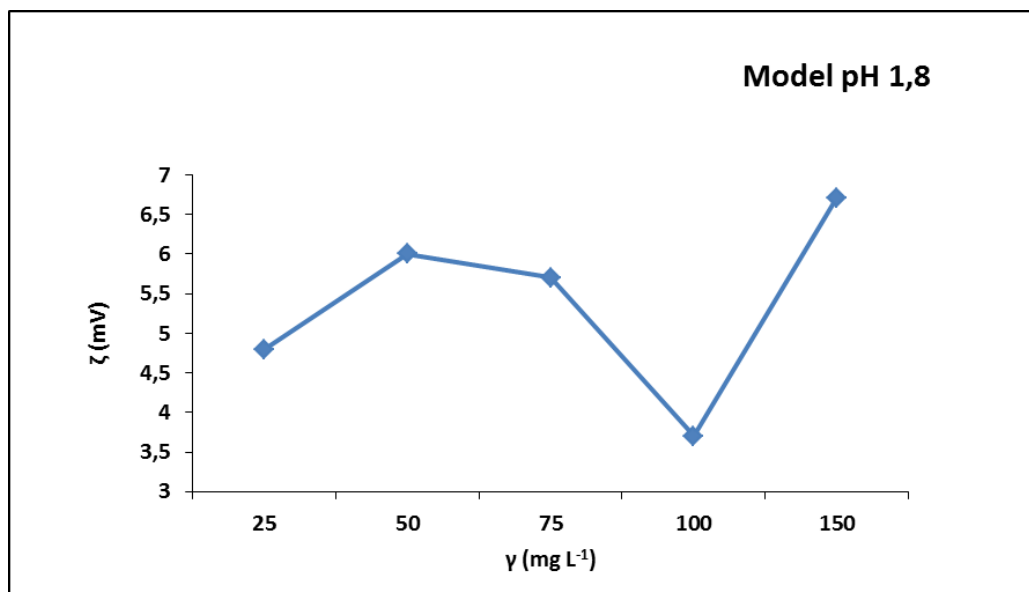


Slika 12 Vrijednost zeta potencijala otopine galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 10

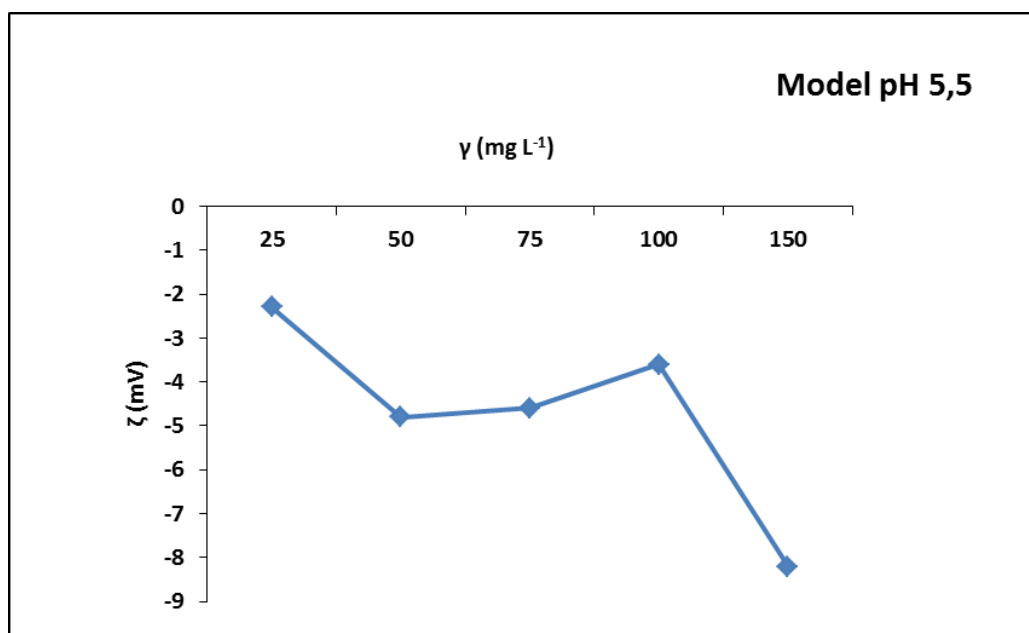
4.1.3. Elektrokinetički potencijal modela galne kiseline i β -glukana

Tablica 3 Vrijednosti zeta potencijala modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 1,8; 5,5; 7,5; 10

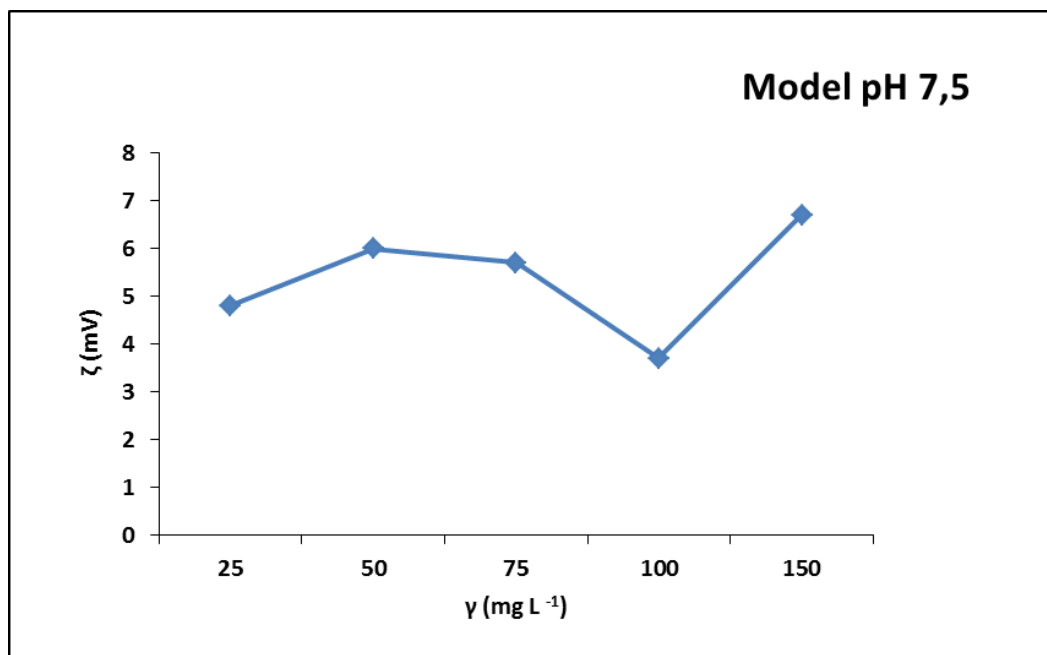
	pH 1,8	pH 5,5	pH 7,5	pH 10
γ (mg L ⁻¹)	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)
25	4,8	-2,3	-8,1	-18,1
50	6	-4,8	-5,7	-14,6
75	5,7	-4,6	-6,6	-14
100	3,7	-3,6	-5,1	-16,7
150	6,7	-8,2	-8,9	-21,1



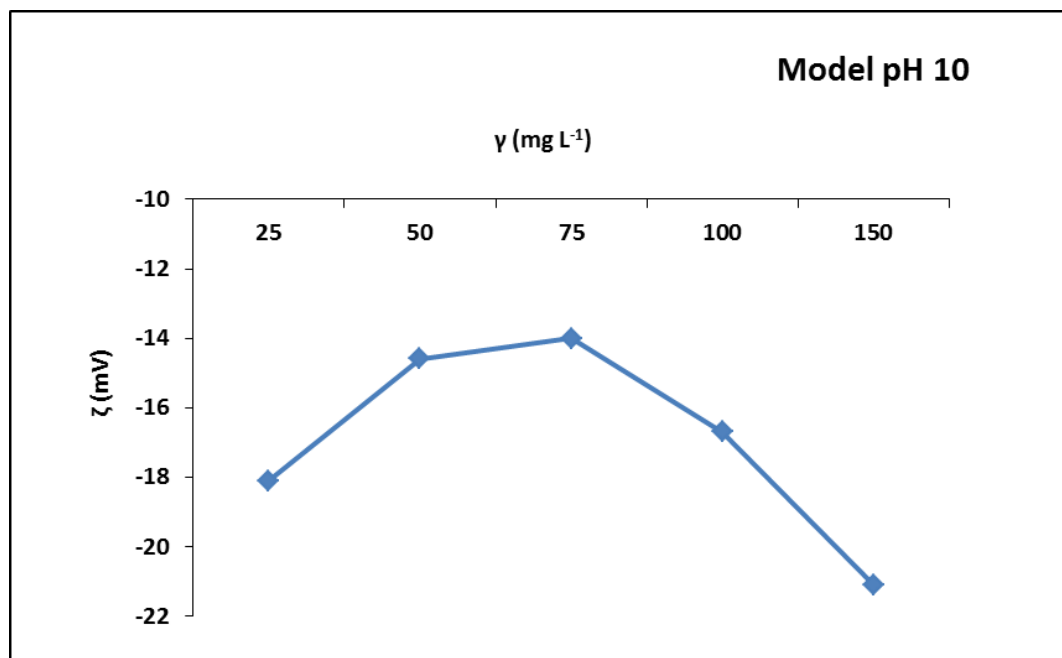
Slika 13 Vrijednost zeta potencijala modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 1,8



Slika 14 Vrijednost zeta potencijala modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 5,5



Slika 15 Vrijednost zeta potencijala modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 7,5

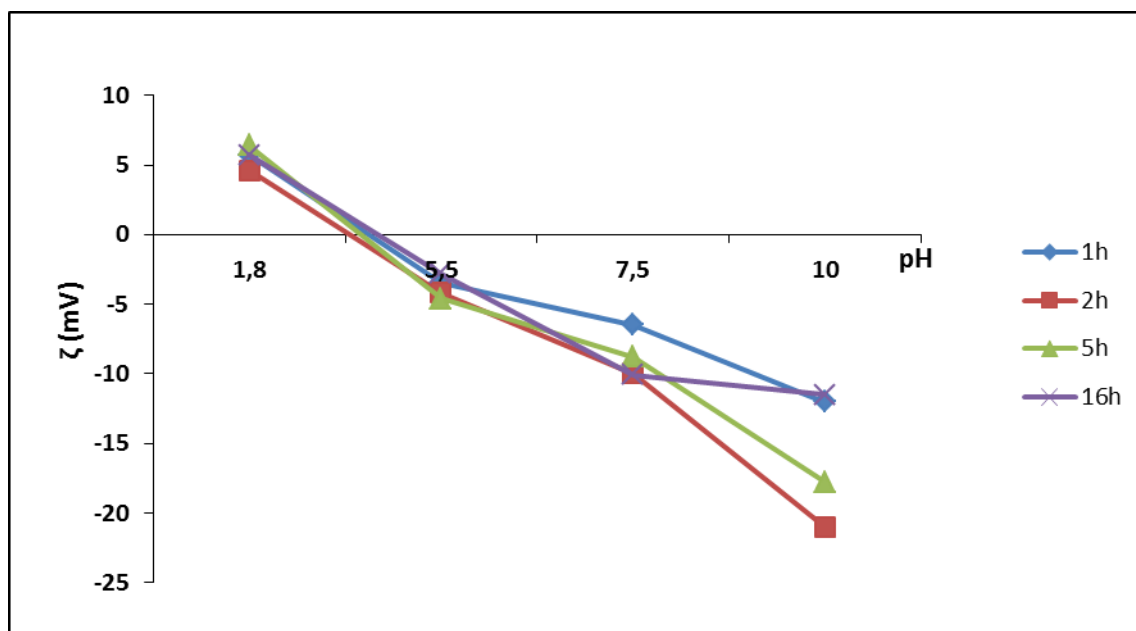


Slika 16 Vrijednost zeta potencijala modela modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) pri pH 10

4.1.4. Elektrokinetički potencijal modela galne kiseline i β -glukana kroz različiti vremenski period

Tablica 4 Ovisnost modela β -glukana (5 mg L^{-1}) i galne kiseline (koncentracije 25 mg L^{-1}) o pH 1,8; 5,5; 7,5; 10 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h

pH	1h	2h	5h	16h
1,8	5,7	4,6	6,4	5,7
5,5	-3,5	-4,2	-4,6	-2,8
7,5	-6,5	-10	-8,8	-10,1
10	-12	-21	-17,8	-11,5

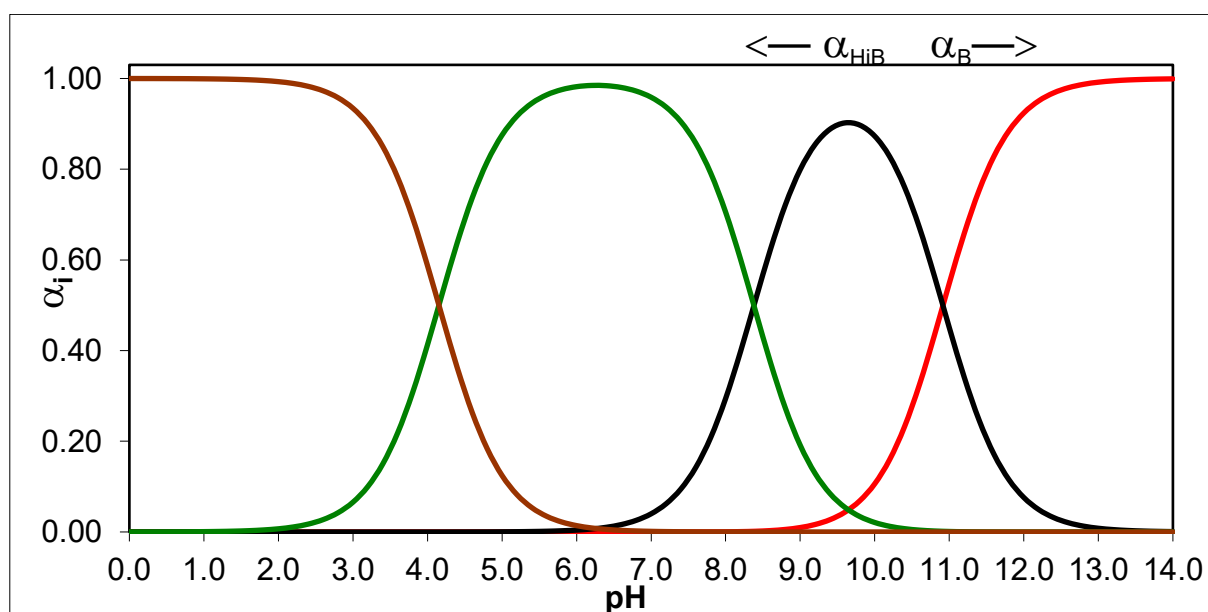


Slika 17 Vrijednosti zeta potencijala modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) u pH 1,8; 5,5; 7,5 i 10 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h

5. RASPRAVA

U ovom diplomskom radu provedeno je istraživanje apsorpcijskih spektara i utjecaj promjene koncentracije, pH vrijednosti pufera i vremena na vrijednost zeta potencijala galne kiseline i modela galne kiseline i β -glukana.

Apsorpcijski spektri snimani su u području valnih duljina od 200 do 700 nm kroz vremenski period od 1, 2, 5 i 16 sati za model galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) u pH vrijednosti pufera 1,8; 5,5; 7,5 i 10, a prikazani su na **Slikama 4-7**. Na **Slikama 4-7** mogu se uočiti tri apsorpcijska pika na valnim duljinama od oko 220 nm, 250 nm i 280 nm, što odgovara utjecaju kemijske strukture modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) na ispitane uvjete. Apsorpcijski maksimum modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) nalazi se na valnoj duljini od oko 273 nm što odgovara i literaturnim navodima (Fernandes i Salgado, 2016.; Polewski i sur., 2002.). Nadalje, na apsorpcijske spektre modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) utječe pH vrijednosti pufer otopina, a pozicija apsorpcijskog maksimuma ovisi o disocijacijskom obliku ispitanog modela. Na **Slici 18** prikazan je distribucijski dijagram galne kiseline koji prikazuje neutralnu molekulu do pH 3,5, zatim u području od pH 3,5-14 molekula je u obliku aniona.



Slika 18 Distribucijski dijagram galne kiseline

Ako se usporedi distribucijski dijagram galne kiseline s apsorpcijskim spektrima snimanog apsorpcijskog maksimuma u pH do 3,4 kada je prisutna neutralna molekula je oko 269 nm, u

lagano kiselom i neutralnom pH prisutan je anionski oblik, a apsorpcijski maksimum je prisutan pri 257 nm i u lužnatom pH kada je prisutan također anionski oblik molekule, dolazi do obojenja molekule odnosno do autooksidacije i apsorpcijski maksimum se postiže pri 295 nm zbog prisustva unutarmolekulske vodikove veze (Polewski i sur., 2002.; Fernandes i Saldago, 2016.).

Zatim je ispitan utjecaj pH vrijednosti pufer otopine (1,5 5,5 7,5 i 10) na vrijednost zeta potencijala β -glukana (5 mg L⁻¹), a prikazan je na **Slici 8** i u **Tablici 1**. Iz grafičkog i tabličnog prikaza uočava se opadanje vrijednosti zeta potencijala prelaskom iz kiselog prema lužnatom pH, a izoelektrična točka postignuta je oko pH 2.

Nadalje, ispitan utjecaj pH vrijednosti pufer otopine (1,5 5,5 7,5 i 10) na vrijednost zeta potencijala promjene koncentracije galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹), a prikazan je na **Slikama 9-12** i u **Tablici 2**. Iz grafičkih i tabličnog prikaza uočava se pozitivna vrijednost zeta potencijala ispitanih koncentracija galne kiseline u kiselom mediju i u lagano kiselom i neutralnom pH kao i u lužnatom pH negativne vrijednosti zeta potencijala, što je u skladu s teorijskim osnovama o zeta potencijalu (Salopek i sur., 1992.). Iz **Tablice 2** se može uočiti da je u lužnatom pH vrijednost zeta potencijala najniža i negativna oko -30 mV što govori da je prisutan anionski oblik molekule galne kiseline, a to je u skladu sa **Slikom 18** i prisutan je najstabilniji oblik molekule galne kiseline.

Zatim je ispitan utjecaj pH vrijednosti pufer otopine (1,5 5,5 7,5 i 10) na vrijednost zeta potencijala modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i promjene koncentracije galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹), a prikazan je na **Slikama 13-16** i u **Tablici 3**. Iz grafičkih i tabličnog prikaza uočava se pozitivna vrijednost zeta potencijala ispitanog modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i promjene koncentracije galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹) te se uočava slično ponašanje kao i kod ispitane molekule galne kiseline i β -glukana odnosno prisustvo pozitivnih vrijednosti zeta potencijala u kiselom pH i u neutralnom i lužnatom negativnih vrijednosti te stabilnosti molekule pri pH 10 (Salopek i sur., 1992.).

Jedan od ciljeva ovog istraživanja bilo je određivanje najstabilnijeg modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25 mg L⁻¹) u vremenskom periodu od 1, 2, 5 i 16 sati pri pH 1,8; 5,5; 7,5 i 10 što je prikazano u **Tablici 4** i na **Slici 17**. Iz grafičkog i tabličnog prikaza uočava se da je najstabilniji oblik modela β -glukana (5 mg L⁻¹) i galne kiseline (25 mg L⁻¹) pri pH 10, a izoelektrična točka tijekom

cijelog ispitanog vremenskog perioda je prisutna oko pH 2. Uspoređujući zasebno vrijednosti zeta potencijala galne kiseline i β -glukana s modelom β -glukana (5 mg L^{-1}) i galne kiseline (25 mg L^{-1}) vrijednosti zeta potencijala su bliže vrijednostima dobivenim za β -glukana (5 mg L^{-1}) nego vrijednostima zeta potencijala za galnu kiselinu (25 mg L^{-1}) što govori o interakciji između molekule galne kiseline i β -glukana odnosno o kemijskoj strukturi molekula i nastanku veza koje snažno utječu na iznos zeta potencijala odnosno na stabilnost ispitanog modela.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi istraživanja u ovom radu mogu se proizvesti slijedeći zaključci:

- Na apsorpcijske spektre modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) utječe pH vrijednosti pufer otopina, a pozicija apsorpcijskog maksimuma ovisi o disocijacijskom obliku ispitanog modela.
- Tri apsorpcijska pika su prisutna na valnim duljinama od oko 220 nm, 250 nm i 280 nm, što odgovara utjecaju kemijske strukture modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) na ispitane uvjete. Apсорpcijski maksimum modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) nalazi se na valnoj duljini od oko 273 nm što odgovara i literaturnim navodima.
- Na apsorpcijske spektre modela galne kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) utječu pH vrijednosti pufer otopina, a pozicija apsorpcijskog maksimuma ovisi o disocijacijskom obliku ispitanog modela. Najstabilniji oblik modela β -glukana i galne kiseline je pri pH 10, a izoelektrična točka tijekom cijelog ispitanog vremenskog perioda je prisutna oko pH 2.
- Iz vrijednosti zeta potencijala uočava se pozitivna vrijednost zeta potencijala ispitanih koncentracija galne kiseline u kiselom mediju i u lagano kiselom i neutralnom pH kao i u lužnatom pH negativne vrijednosti zeta potencijala, što je u skladu s teorijskim osnovama o zeta potencijalu te se može uočiti da je u lužnatom pH vrijednost zeta potencijala najniža i negativna oko -30 mV što govori da je prisutan anionski oblik molekule galne kiseline, a što je u skladu s distribucijskim dijagramom te je prisutan najstabilniji oblik molekule galne kiseline.
- Vrijednosti zeta potencijala ispitanog modela β -glukana (5 mg L^{-1}) i promjene koncentracije galne kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L^{-1}) pokazuju slično ponašanje kao i kod ispitane molekule galne kiseline i β -glukana odnosno prisustvo pozitivnih vrijednosti zeta potencijala u kiselom pH i u neutralnom i lužnatom negativnih vrijednosti te stabilnosti molekule pri pH 10.
- Uspoređujući zasebno vrijednosti zeta potencijala galne kiseline i β -glukana s modelom β -glukana (5 mg L^{-1}) i galne kiseline (25 mg L^{-1}) vrijednosti zeta potencijala su bliže

vrijednostima dobivenim za β -glukana (5 mg L^{-1}) nego vrijednostima zeta potencijala za galnu kiselinu (25 mg L^{-1}) što govori o interakciji između molekule galne kiseline i β -glukana odnosno o kemijskoj strukturi molekula i nastanku veza koje snažno utječu na iznos zeta potencijala odnosno na stabilnost ispitanog modela.

7. LITERATURA

- Andrés-Lacueva C, Chiva-Blanch G, Khan N, Lamuela-Raventós RM, Llorach R, Medina-Remon A, Rotches-Ribalta M, Urpi-Sarda M, Zamora R: Phenolic Compounds: Chemistry and Occurrence in Fruits and Vegetables. U *Fruit and vegetable phytochemicals*. Wiley-Blackwell, New Delhi, 2010.
- Badhani B, Sharma N, Kakkar R: Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances* 35, 2015.
- Bordenave N, Hamaker BR, Ferruzzi MG: Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in food, *Food&Function* 5: 18-34, 2014.
- Čović D, Bojić M, Medić-Šarić M: Metabolizam flavonoida i fenolnih kiselina. *Farmaceutski glasnik*. 65, 693-704, 2009.
- Escarpa A, Gonzalez MC: An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31:57-139, 2001.
- Fernandes FH, Saldago HRN: Gallic acid: Review of the methods of determination and quantification. *Critical Review in Analytical Chemistry*, 46: 257-265, 2016.
- Filipović NK, Gyura JF, Filipović JS, Šoronja-Simović D : *Izvori prehrambenih vlakana za potrebe pekarstva*, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2003.
- Gao R, Liu H, Peng Z, Wu Z, Wang Y, Zhao G: Adsorption of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) onto oat β -glucan, *Food Chemistry* 132: 1936-1943, 2012.
- Gharras, HE: Polyphenols: food sources, properties and applications. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:2512–2518, 2009.
- Heaton, KW: *Food fiber as an obstacle to energy intake*. *Lancet* 2, 1418-1421, 1973.
- Hunter RJ: *Zeta potential in Colloid Science*, Academic Press, NY, 1981.

- Jakobek Barron L: Nastavni materijal iz kolegija Instrumentalne metode II. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2017.
- Jia Z, Tangi M, Wu J: The determination of flavonoids content in mulberry and scavenging effect on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64:555-559, 1999.
- Lewandowska U, Szewczyk K, Owczarek K, Hrabec Z, Podsędek A, Sosnowska D, Hrabec E: Procyanidins from evening primrose (*Oenothera paradoxa*) defatted seeds inhibit invasiveness of breast cancer cells and modulate the expression of selected genes involved in angiogenesis, metastasis, and apoptosis. *Nutr. Cancer* 65(8):1219-31, 2013.
- Locatelli C, Filippin-Monteiro FB, Creczynski-Pasa TB: Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 60:233-239, 2013.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L: Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747, 2004.
- Mandić ML, Nosić M: *Funkcionalna svojstva prehrambenih vlakana*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2009.
- Mateljan G: *Najzdravije namirnice svijeta*, Planetopija, d.o.o. Zagreb, 2008
- Pandey, KB, Rizvi SI: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2: 270-278, 2009.
- Penner MH: Basic Principles of Spectroscopy. U: *Food analysis*, str. 375-385. Springer Science, Business Media, LLC, SAD, 2010.
- Polewski K, Kniat S, Slawinska D: Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous and micellar environment: spectroscopic study. *Current Topics in Biophysics*, 26:217-227, 2002.
- Potter CE: *Elektrokemija, Osnove i primjena*, Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 132-144, Zagreb, 1968.

- Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti V, Di Giacomo C, Virgata G, Barcellona ML, Vanella A: Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology* 16: 91-98, University of Catania, Italy, 2000.
- Salopek B, Krsić D, Filipović S: Measurement and application of zeta potential. *Rudarsko-geološki-naftni zbornik*, 147-151, University of Zagreb, 1992.
- Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L: Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45: 287-306, 2005.
- Shahidi F, Yeo J : *Insoluble-Bound Phenolics in Food*. *Molecules*, 21: 1216, 2016.
- Shivashankara KS, Acharya SN: Bioavailability of Dietary Polyphenols and the Cardiovascular Diseases. *The Open Nutraceuticals Journal* 3: 227-241, 2010.
- Soto ML, Moure A, Domínguez H, Parajó JC: Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: a review, *Journal of Food Engineering* 105: 1-27, 2011.
- Tsao R: Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2(12): 1231-1246, 2010.
- Tsao R, McCallum J: Chemistry of Flavonoids. *Fruit and vegetable phytochemicals*. Wiley-Blackwell, New Delhi, 2010.
- Vetvicka V: Glucan-immun stimulant, adjuvant, potential drug. *World Journal of Clinical Oncology* 2: 115, 2011.
- Vranešić Bender D, Sandra K, Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka, *Macronutrients and Micronutrients in Human Nutrition*, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 17: 19-25, Zagreb, 2008.
- Quirós-Sauceda AE, Palafox-Carlos H, Sáyago-Ayerdi SG, Ayala-Zavala JF, Bello-Perez LA, Álvarez-Parrilla E, de la Rosa LA, González-Córdova AF, González-Aguilar GA: Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food Function*, 5: 1063 – 1072, 2014.

Wu Z, Ming J, Gao R, Wang Y, Liang Q, Yu H, Zhao G: Characterization and antioxidant activity of the complex of tea polyphenols and oat β -glucan, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 10737-10746, 2011.

Yoon JH, Baek SJ: Molecular targets of dietary polyphenols with antiinflammatory properties. *Yonsei Med. J.* 46 (5): 585-596, 2005.

You BR, Moon HJ, Han YH, Park WH: Gallic acid inhibits the growth of HeLa cervical cancer cells via apoptosis and/or necrosis. *Food Chem. Toxicol.* 48(5):1334-40, 2010.

WEB1: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/measurement-type/zeta-potential>(Pristupljeno 14.08.2019.)

WEB 2: https://sestar.irb.hr/instrumenti_show.php?ID=713(Pristupljeno 26.08.2019.)

WEB 3: <https://docplayer.net/65683057-Katalog-opreme-equipment-catalogue.html>
(Pristupljeno 02.09.2019.)

WEB 4: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=spektar+elektromagnetskog+zračenja>
(Pristupljeno 17.09.2019.)

WEB 5: <https://e-brojevi.udd.hr/310.htm> (Pristupljeno 22.09.2019.)

Web 6:
<https://zdravljeizivot.com/djelovanje/?fbclid=IwAR0OcQ97k9ENDjTVEnxu74UjVCzbgjyYNrF2bXQ4BAKyE4caSm83Y3AJM> (Pristupljeno 15.09.2019.)